Aus dem pharmakologischen Institut von Prof. v. SCHROEDER in Heidelberg.

ÜBER DIE AUSSCHEIDUNG

DES

COFFEIN UND THEOBROMIN IM HARN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU HEIDELBERG

VON

EUGEN ROST

AUS SCHELLENBERG IN SACHSEN.

approb. Arzt.

Dekan:
Geh. Rath Prof. Dr. Gegenbaur.

Referent:
Prof. Dr. v. Schroeder.

LEIPZIG,

DRUCK VON J. B. HIRSCHFELD.

1895.

Sonderabdruck
aus dem
Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie
XXXVI. Band.

Aus dem pharmakologischen Institut von Prof. v. SCHROEDER in Heidelberg.

ÜBER DIE AUSSCHEIDUNG

DES

COFFEIN UND THEOBROMIN IM HARN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU HEIDELBERG

VON

EUGEN ROST

AUS SCHELLENBERG IN SACHSEN.

LEIPZIG,

DRUCK VON J. B. HIRSCHFELD.

1895.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153311_0206

So umfangreich die Literatur über Eigenschaften, Darstellung und Wirkungen des Coffeïn ist[1]), so gering sind unsere Kenntnisse über seine Ausscheidung aus dem Thierkörper. Die Schicksale des Theobromin sind fast noch weniger untersucht als die des Coffeïn.

Bot nun schon vom physiologisch-chemischen Standpunkt aus die Beantwortung der Frage nach der Ausscheidung dieser beiden Xanthinbasen hohes Interesse, so ist durch die Untersuchungen W. v. Schroeder's[2]) ein pharmakologischer Gesichtspunkt hinzugekommen. Denn da er nachgewiesen hat, dass Coffeïn und Theobromin[3]) nicht durch Erhöhung des Blutdrucks, sondern vielmehr durch Beeinflussung der Nierenepithelien Diurese erzeugen, so liegt die Frage nahe, ob nicht zwischen dem Eintritt der Diurese einerseits und der Ausscheidung des Coffeïn und Theobromin andererseits causale Beziehungen bestehen.

Dass aber die täglichen Genussmittel (Kaffee, Thee, Cacao) und ihre wirksamen Bestandtheile (Coffeïn, Theobromin) bisher auf ihre Ausscheidung so wenig untersucht worden sind, dürfte zum Theil gewiss auf dem Fehlen einer exacten quantitativen Methode für den Nachweis dieser Substanzen beruhen.

Es war demnach die erste Aufgabe, eine allen Anforderungen

---

1) Brill, Das Coffeïn, eine pharmakologische Monographie (Diss. Marburg 1862). — Peretti, Beiträge zur Toxikologie des Coffeïn (Diss. Bonn 1875).

2) Ueber die Wirkungen des Coffeïn als Diureticum. Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXII. (1887.)

3) Ueber die diuretische Wirkung des Coffeïns und der zu derselben Gruppe gehörenden Substanzen. Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXIV. (1888.)

genügende Methode des Nachweises für die beiden Xanthinbasen auszuarbeiten; erst dann konnte ihre Ausscheidung im Harn verschiedener Thiere und des Menschen verfolgt werden.

I. Coffeïn.

Historisches.

Ueber die Ausscheidung und die Schicksale des Coffeïn liegen drei Arbeiten vor.

Schutzkwer[1]) extrahirte den eingedampften Coffeïnharn mit Alkohol, nahm den Rückstand des eingedunsteten Extractes in schwefelsäurehaltigem Wasser auf, schüttelte mit warmem Chloroform aus, destillirte auf kleinen Rückstand ab und nahm diesen in Petroläther auf. Nach 24stündigem Stehen konnte er Coffeïn durch die Farbenreaction nachweisen. Mit Hülfe dieser Methode fand er im Harn eines Kaninchens*), dem er 0,2 g Coffeïn subcutan gegeben hatte, 0,012 g „reines Coffeïn", also 6 Proc. wieder.

Maly und Andreasch[2]) verfütterten, nachdem sie den Uebergang des Coffeïn in den Harn von Hunden nachgewiesen hatten, 0,1 g Coffeïn an einen Hund. Der Harn wurde mit Chlorbaryum und Barytwasser ausgefällt, filtrirt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Rückstand der eingedunsteten Ausschüttelung wurde in heissem Wasser aufgenommen, filtrirt, eingedampft, mit Benzol gewaschen und in Chloroform gelöst. Auf diesen einzigen Versuch gestützt, bei dem sie „einen schwachgelben Filz von Coffeïnnadeln" vom Gewicht 0,066 g, also 66 Proc. gefunden haben, schliessen sie: „der grösste Theil, vielleicht alles Coffeïn, erscheint im Harn wieder".

Schneider[3]) erwähnt zunächst von älteren Arbeiten, dass C. G. Lehmann und Neubauer niemals Coffeïn im Harn nachweisen konnten sowohl nach Kaffee- und Theegenuss als nach Eingabe von Coffeïn, dass dagegen Strauch jedesmal Coffeïn im Harn der an Coffeïnintoxication verendeten Thiere fand und Schwengers nach Kaffeegenuss Coffeïn im Harn gesehen haben will. Weiter berichtet

---

1) Nachum Schutzkwer (unter Jaffé's Leitung), Das Coffeïn und sein Verhalten im Thierkörper. Diss. Königsberg 1882.

2) Maly und Andreasch, Studien über Coffeïn und Theobromin. V. Abhandl. Monatshefte der Chemie 1883..

3) Schneider (unter Dragendorff's Leitung), Ueber das Schicksal des Coffeïn und Theobromin im Thierkörper. Diss. Dorpat 1884.

*) Hierbei sei bemerkt, dass dieser Versuch in den Maly-Andreaschschen Jahrbüchern als am Hunde angestellt citirt ist und diese Angabe in Bunge's Lehrbuch der physiologischen Chemie und Pathologie 1894 übergegangen ist.

er, dass nach der Dragendorff'schen Methode Hammersten und Dragendorff kein Coffeïn im Harn aufgefunden hätten. Er selbst kommt zu dem Resultate, dass man aus einer sauren oder alkalischen wässerigen Lösung durch Ausschüttelung mit Benzin oder Chloroform, nicht aber mit Petroläther Coffeïn wieder erhalten könne. Im Harn und in Organextracten, denen er Coffeïn hinzugesetzt hatte, konnte er mittelst dieser Methode Coffeïn auch in kleinsten Mengen nachweisen (Nachweis der Krystallnadeln; Chlorwasser-Ammoniak-Probe; Darstellung eines Coffeïnquecksilbersalzes).

Den qualitativen Nachweis, dass Coffeïn in den Harn übergeht, brachte noch Aubert an gesunden Menschen.[1])

Methode des Coffeïnnachweises.

Bei der Ausarbeitung einer Methode des Coffeïnnachweises verfolgte ich das Ziel, die Substanz chemisch rein darzustellen und zur Wägung zu bringen. Deshalb sah ich von allen bekannten Methoden ab, weil man bei ihrer Anwendung den Uebergang von Beimengungen nicht ausschliessen kann.

Zunächst wurde die Löslichkeit des Coffeïn in verschiedenen Lösungsmitteln bei Zimmertemperatur auf übliche Weise bestimmt. Es wurde von der Lösungsflüssigkeit, die mit einem Ueberschuss von Coffeïn 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, filtrirt, verdunstet, getrocknet und gewogen. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle der Löslichkeit des Coffeïns in verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Rückstand, berechnet auf 1000 ccm in g	1 Thl. Coffeïn löslich in Thl. Lösungsmittel	Mittelwerth
1. Chloroform	1436 1423	1 : 9,6 Thl. 1 : 7,0 Thl.	1 : 8,3 Thl.
2. Benzin (E. Merck)	0,06 0,06	— —	
3. Aether petrol.	0,05 0,06	— —	
4. Aether sulfur.	7 8	1 : 1250 Thl. 1 : 1111 =	1 : 1320 =
5. Aether acet.	115 113	1 : 87 = 1 : 88 =	1 : 87,5 =

1) Aubert, Ueber den Coffeïngehalt des Kaffeegetränkes und die Wirkungen des Coffeïn. Pflüger's Archiv. Bd. II. (1872.)

Lösungsmittel	Rückstand, berechnet auf 1000 ccm in g	1 Thl. Coffeïn löslich in Thl. Lösungsmittel	Mittelwerth
6. Alkoh. absol.	53 48	1 : 188 Thl. 1 : 208 =	1 : 198 Thl.
7. Aqu. dest.	131 126	1 : 76 = 1 : 79 =	1 : 77,5 =
8. Benzol	32 33	1 : 312 = 1 : 303 =	1 : 307,5 =
Xylol Toluol	erwiesen sich als minderwerthige Lösungsmittel.		

Wir besitzen also für das Coffeïn viele vortreffliche Lösungsmittel, obenan stehen das Chloroform und der Essigäther.

Als besonders beachtenswerth erschien ferner die Eigenschaft des Coffeïn, sich in einer Lösung von Natrium benzoicum (Natr. salicyl., Natr. cinnamm.) zu lösen.

Coffeïn wird (wie auch Theobromin) aus saurer Lösung quantitativ durch Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure gefällt. Dass die Fällung eine quantitative ist, zeigte ein Versuch, in dem ich 250 ccm Menschenharn, dem 0,1 g Coffeïn zugesetzt war, in der bekannten Weise mit Phosphorwolframsäure ausfällte, den Niederschlag mit Baryt zersetzte und nach der Entfernung des überschüssigen Baryts mittelst Kohlensäure eindampfte; aus dem Rückstand erhielt ich durch oftmalige Extraction mit Chloroform, am besten im Soxhlet'schen Apparat, 95,6 Proc. des zugesetzten Coffeïn in schönen Nadeln wieder.

Dennoch wurde dieser Ausfällung des Coffeïn die bequemere Methode des Ausschüttelns mit Chloroform vorgezogen.

Ich verfuhr dabei so, dass ich den Harn nach dem Eindampfen mit Alkohol extrahirte, den Rückstand des alkoholischen Extractes mit Chloroform ausschüttelte und dann zur sicheren Trennung des Coffeïn von Verunreinigungen den Rückstand der Ausschüttelung noch mit Natrium benzoicum aufnahm und abermals mit Chloroform extrahirte. Das Verfahren gestaltete sich demnach wie folgt:

Der Harn, der mit kohlensaurem Natrium alkalisch gemacht ist, wird zur Syrupsdicke eingedampft und mit Alkohol absolutus verrieben. Der Rückstand des Alkoholextractes wird in wenig Wasser gelöst und 6mal bei saurer Reaction ausgeschüttelt. Der Rückstand der Chloroformausschüttelung, der gewöhnlich schon Nadeln zeigt, wird in circa 5proc Lösung von Natrium benzoicum aufgenommen und filtrirt. Sodann wird der Rückstand der eingedampften Lösung

mit Chloroform 6 mal in einem bedeckten Glase extrahirt, und das Extract auf ein gewogenes Glasschälchen filtrirt, abgedunstet, getrocknet und gewogen.

Dass Coffeïn, in benzoesaurem Natron gelöst, quantitativ durch die Extraction mit Chloroform wiederzuerhalten ist, ergiebt sich aus folgender Tabelle.

Es wurden aus reinem Wasser erhalten:

	I.	II.
durch 1 maliges Extrahiren	76 Proc.	93 Proc. Coffeïn
= 2 = =	91,4 =	97,5 = =
= 3 = =	—	98,1 = =
= 4 = =	—	99,5 = =

Ich überzeugte mich ferner, dass diese Methode auf reine, wässerige Lösung von Coffeïn und auf Harn der verschiedenen Thierklassen, dem Coffeïn zugesetzt worden war, angewandt quantitative befriedigende Resultate ergiebt.

Versuche mit Wasser (200 ccm), dem Coffeïn zugesetzt wurde:

Zugesetzt	0,0334	0,0329	0,1514
Gefunden	0,0311	0,0333	0,1529

Versuche mit Harn (je 200 ccm) der verschiedenen Thierklassen, dem Coffeïn zugesetzt wurde:

Kaninchenharn.

Zugesetzt	0,0495	0,0987	0,0987	0,0930	0,1004
Gefunden	0,0510	0,1000	0,1003	0,0942	0,1024

Hundeharn		Katzenharn	
Zugesetzt	0,1000	Zugesetzt	0,1000
Gefunden	0,1007	Gefunden	0,0987

Menschenharn.

	alkalische Ausschüttelung		saure Ausschüttelung		
Zugesetzt . .	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,0495
Gefunden . .	0,0815	0,0941	0,0995	0,1040	0,0517

Auf Grund der Resultate dieser Methode bei verschiedener Reaction erscheint die Auschüttelung bei sauerer Reaction als die bessere.

Um zu erweisen, dass diese Methode auf coffeïnfreien Harn angewandt, keinen Rückstand giebt, konnte ich zwei Versuche benutzen, die ich an mir anstellte, um zu entscheiden, ob sich nach Kaffeegenuss Coffeïn im Harn findet. Die Resultate waren nämlich negativ.

A. Früh 8 h, 1½ Tasse Kaffe (eine Tasse enthält 0,1—0,12 g Coffeïn).

= 11 h	264 ccm	1022 sp. Gew.	neutral	Hunger-	Resultat:
= 1 h	60 =	1021 sp. Gew.	schwachsauer	zustand	negativ
Versuchsdauer 5 Stunden	Harn 324 ccm				

B. Früh 8 h, 1½ Tasse Kaffee; Nachmittags 2 h 1 Tasse.

11 h 30 m	175 ccm	1021 sp. Gew.	neutral	Gewöhnliche	Resultat:
1 h	90 =	1021 sp. Gew.	schwach alk.	Lebensweise	So gut wie
3 h	90 =	1022 sp. Gew.	schwach sauer		negativ.
4 h	60 =	1023 sp. Gew.	= =		
8 h	400 =	1024 sp. Gew.	= =		
Versuchsdauer 12 Stunden	Harnmenge 815 ccm				

Thierexperimente.

Versuche wurden am Kaninchen, Katze, Hund und endlich am Menschen angestellt. Da bei längerer Coffeïneingabe durch Gewöhnung des Organismus eine Veränderung der Ausscheidung stattfindet[1]), wurden zu den Versuchen nur neue Thiere benutzt.

Um Kaninchen grössere Dosen Coffeïn geben zu können, wurde die tetanisirende Wirkung desselben durch Paraldehyd herabgesetzt. Durch Abdrücken wurde der zu der Versuchsperiode gehörige Harn gewonnen, und um die Curve der Coffeïnausscheidung festzustellen, der Harn des Versuchstages und der des folgenden Tages getrennt untersucht.

Coffeïn-Versuche an Kaninchen.

Versuchsthier, Gewicht in g	Menge des einverleibten Coffeïn u. Paraldehyd	Versuchsdauer	Harnm. in ccm	Spec. Gew.	Reaction	Verhalten des Thieres, Fütterung	wiedergefundenes Coffeïn
I. 2250	subcutan **0,2 g** **Coff.** 2,5 ccm Paralid. per os	1 Tag	150	—	alk.	Thier munter Fütterung	0,0222 g = **11,1%**
II. 2000	subcutan **0,2 g** **Coff.** 2,5 ccm Paralid. per os	1. Tag 2. u. 3. Tag	172 452	1023 1020	alk. alk.	Thier munter Fütterung	0,0302 g 0,0102 g = **20,2%**
III. 1450	subcutan **0,2 g** **Coff.** 1,5 ccm Paralid. per os	1. Tag 2. Tag 3. Tag	70 28 8	1010 — —	alk. alk. alk.	Wenig Rüben	0,0136 g 0,0065 g 0,0040 g = **12%**
IV. 2700	subcutan **0,2 g** **Coff.** 3 ccm Paralid. per os	1. Tag 2. Tag 3. Tag	306 110 102	1011 1030 1030	alk. alk. alk.	Rüben Thier schlafsüchtig	0,0233 g 0,0032 g 0,0012 g = **13,8%**
V. 1500	subcutan **0,2 g** **Coff.** 1,25 ccm Paralid. per os	5 Tage	740	1021	alk.	Thier munter Rüben u. Brot	0,0364 g = **18,2%**
VI. 1900	subcutan **0,2 g** **Coff.** 1,75 ccm Paralid. per os	5 Tage	1092	1013	alk.	Thier munter Rüben u. Brot	0,0426 g = **21,3%**

1) Haase, Untersuchungen über die Wirkung des Coffeïn. Diss. Rostock 1871. — Bennet, An experimental inquiry into the physiological actions of Theïn, Coffeïn and Theobromin. Edinburgh Medical Journal. XIX.

Zusammenfassung: Bei Eingabe von 0,2 g Coffeïn erhielt ich nach 1 mal 24 Stunden **11,1 Proc.**, nach 2 mal 24 Stunden **20,2 Proc.**, nach 3 mal 24 Stunden **12 Proc.** und **13,8 Proc.**, nach 5 mal 24 Stunden **18,2 Proc.** und **21,3 Proc.** der einverleibten Substanz im Harn wieder.

Aus der Tabelle ergiebt sich, dass von dem einverleibten Coffeïn bei Weitem die grösste Menge am ersten Tage ausgeschieden wird.

Coffeïn-Versuche an Katzen.

Versuchsthier, Gewicht in g	Menge des einverleibten Coffeïn	Versuchsdauer	Harnm. in ccm	Spec. Gew.	Reaction	Verhalten des Thieres, Fütterung	Resultat
VII. 2400	**0,1 g** subcutan	5 Tage	Harn wegen Durchfalls verunreinigt, filtrirt			Milch u. Brot	Nur qualitativer Nachweis möglich.
VIII. 2800	**0,15 g** subcut.	5 Tage	450	1051	alk.	Fleischtrockendiät	0,0038 g = **2,4%**
IX. 2400	**0,15 g** subcut.	5 Tage	290	1049	alk.	Fleischtrockendiät	Nur qualitativer Nachweis möglich.

Zusammenfassung: Bei 5tägiger Versuchsdauer erhielt ich nach subcutaner Eingabe von 0,1 g Coffeïn nur qualitativ nachweisbare Mengen, nach Eingabe von 0,15 g Coffeïn nur qualitative Mengen und **2,4 Proc.** der einverleibten Substanz wieder.

Coffeïn-Versuche am Hunde.[1])

Versuchsthier, Gewicht in g	Menge des einverleibten Coffeïn	Versuchsdauer	Harnm. in ccm	Spec. Gew.	Reaction	Verhalten des Thieres, Fütterung	Resultat
X. 4900	**0,1 g** per os in 2 Gaben	5 Tage	1810	1015	alk.	Thier munter, Milch u. Brot	0,0078 g = **7,8%**
XI. 5000	**0,1 g** per os	5 Tage	985	1022	alk.	Thier munter,	0,0081 g = **8,1%**
XII. 5000	**0,4 g** per os in 4 Gaben	5 Tage	—	—	—	Fleisch	0,0074 g = **1,8%**
XIII. 10400	**0,4 g** per os in 2 Gaben	3 Tage	—	—	—	Thier munter, Fleisch, wenig Wasser	0,0098 g = **2,5%**
XIV. 5800	**0,4 g** per os in 3 Gaben	4 Tage	—	—	—	Thier munter, Fleisch, wenig Wasser	0,0044 g = **1,1%**
XV. 10500	**0,4 g** subcutan	3 Tage	830	1015	alk.	Thier munter, Fleisch	0,0048 g = **1,2%**

1) Beim Hundeharn stiess ich zum ersten Male (wie später fast regelmässig beim Harn des Menschen) auf die Schwierigkeit, eine klare Ausschüttelung mit Chloroform zu erhalten. Dieser Uebelstand wurde mit Erfolg durch Benutzung der Centrifuge behoben.

Zusammenfassung: Bei Hunden erhielt ich bei 3—5tägiger Versuchsdauer nach Eingabe von 0,1 g Coffeïn per os **7,8** und **8,1 Proc.**, nach Eingabe von 0,4 g Coffeïn per os **1,8, 2,5, 1,1 Proc.**, nach Eingabe von 0,4 g Coffeïn subcutan **1,2 Proc.** der einverleibten Substanz im Harn wieder.

Coffeïn-Versuche am Menschen.

	Menge des einverleibten Coffeïn	Versuchsdauer	Harnm. in ccm	Spec. Gew.	Reaction	Lebensweise; Befinden	Resultat
XVI. Selbstversuch	**0,25** in aqua	18 Std.	1900	—	—	Gewöhnliche Lebensweise, Schwindel	Schmieriger Rückstand ohne Nadeln. Qualitative Nachweise positiv.
XVII. O. C.	**0,25** in aqua	24 Std.	1500	—	—	Gewöhnliche Lebensweise	Spuren von Nadeln, schmierig. Qualitat. Nachweise positiv.
XVIII. Selbstversuch	**0,25** in aqua	25 Std.	1585	1021	schwachsauer	Gewöhnliche Lebensweise	Weidel'sche Probe fraglich.
XIX. Selbstversuch	**0,5** in aqua	17 Std.	1910	1015	anfangs alkalisch, dann neutral	Gewöhnliche Lebensweise (Bier). Heftig. Harndrang, Puls 78 statt 64, *ausserordentlich gespannt*. Hochgradige Erregtheit.	0,0022 = **0,45** %
XX. E. M.	**0,5** in aqua	24 Std.	2050	1011	alkalisch	Gewöhnliche Lebensweise. Harndrang. Schon vorhandene Kopfschmerzen steigern sich. Gespannter Puls.	0,0031 = **0,6** %

Zusammenfassung: Bei Gaben von 0,25 g erhielt ich blos qualitativ nachweisbare Mengen, bei Gaben von 0,5 g **0,45** und **0,6 Proc.** der einverleibten Substanz im Harn wieder.

Schon Schutzkwer und Schneider hatten sich mit der Frage beschäftigt, ob Coffeïn auch mit dem Kothe aus dem Organismus ausgeschieden wird und hatten es weder bei subcutaner Application im Kothe eines Hundes noch bei Eingabe per os im Kothe von Katzen nachweisen können. Ebenso habe ich in den Fäces eines Hundes am 4. Tage nach der Eingabe per os und in den eines anderen Hundes am ersten Versuchstag kein Coffeïn auffinden können.

Aus dem Ueberblick der mitgetheilten Versuche ergiebt sich, dass sich von dem einverleibten Coffeïn im Harn bis 21 Proc. wiederfinden lassen, und zwar betrug die Menge des wieder erhaltenen Coffeïn beim Kaninchen im Maximum 21,3 Proc., beim Hund im Maximum 8 Proc. Bei der Katze war die grösste Ausscheidung 2,4 Proc., und beim Menschen bestand das ausgeschiedene Coffeïn in qualitativ oder eben noch quantitativ bestimmbaren Mengen.

Nach meinen Versuchen scheint ferner ein bedeutsamer Parallelismus zwischen Diurese und Coffeïnausscheidung zu bestehen. Dort, wo Diurese eintrat, war auch Coffeïn im Harn nachzuweisen, und zwar fand sich die grösste Menge Coffeïn im Harn des Kaninchen; sie zeigten auch die stärkste Diurese. Sehr kleine Mengen Coffeïn wurden im Harn der Hunde wieder ausgeschieden; sie sind fast unzugänglich für die Diurese (W. v. Schroeder, Schutzkwer). Auch die im Harn des Menschen auftretenden Mengen Coffeïn waren minimal; in meinen Versuchen blieb auch jede Diurese aus.

Welchen Schicksalen das nicht unverändert ausgeschiedene Coffeïn im Organismus unterliegt, ist noch als eine unentschiedene Frage zu betrachten.

Ueber eine etwaige Vermehrung des Harnstoffs nach Coffeïneingabe finden sich widersprechende Angaben in der Literatur [1]). So fand Hoppe-Seyler [2]) beim Hund die Menge des Harnstoffs etwas vermindert, Voit [3]) dagegen, der an Hunden bei Hunger, Fleisch- und Broddiät den Einfluss des Kaffeeaufgusses prüfte, spricht sich für eine geringe Erhöhung des Harnstoffs aus, und Fubini und Ottolenghi [4]) konnten an gesunden Arbeitern bei Eingabe von 0,2—0,25 g Coffeïn eine constante Zunahme des Harnstoffs von 100 auf 117 constatiren.

In Bezug auf den Uebergang des Coffeïn in Harnsäure sind Leven [5]) und Schutzkwer, in Bezug auf den in Xanthin Jaffé

---

1) Die älteren Arbeiten von Frerichs (1846), J. Lehmann (1853) und Leven (1868) wurden nicht berücksichtigt, weil diese Autoren ihre Versuche noch nicht bei Stoffwechselgleichgewicht anstellten.

2) Ueber die Wirkungen des Coffeïn auf den Stoffwechsel. Deutsche Klinik. 1857. Nr. 19.

3) Untersuchungen über den Einfluss des Kochsalzes, des Kaffees und der Muskelbewegungen auf den Stoffwechsel. München (1860).

4) Nach Maly und Andreasch, Influenza della Caffeina e dell Infuso di Caffé sulla quantita giornaliera di urea usw. (1883).

5) Action physiologique et médicamenteuse de la caféine (archives de Physiol. norm. et pathol. (1868. Tome I).

und endlich hinsichtlich des Kreatinin und Methylamin Schutzkwer zu negativen Resultaten gelangt.

II. Theobromin.

Historisches.

Der erste, der Theobromin im Harn nachgewiesen haben dürfte, war wohl Mitscherlich (1859). Durch Fällung mit phosphorwolframsaurem Natron, Zerlegung mit Baryt und Extraction mit Chloroform erhielt er Theobrominkrystalle.

Schneider benutzte die Ausschüttelmethode und giebt an, dass das Theobromin ausschliesslich in Chloroform bei saurer Reaction übergehe. Nachdem er zuerst zur Reinigung mit Benzin und dann mit Chloroform ausgeschüttelt hatte, wies er im Rückstand des eingedunsteten Chloroforms das Theobromin mit der Weidel'schen Reaction und durch Darstellung eines Theobrominsilbersalzes nach.

Hoffmann[1]) führte mittelst der „Schwarzenbach'schen Reaction den Nachweis des Theobromin im Harn von Patienten nach Diuretineingabe. Zur Gewinnung des Theobromin wandte er die Maly-Andreasch'sche Methode zur Isolirung des Coffeïn an.

Methode des Theobrominnachweises.

Zur Ausarbeitung der Methode wurde wiederum zuerst wie beim Coffeïn die Löslichkeit des Theobromin in den verschiedenen Lösungsmitteln bei Zimmertemperatur in der bekannten Weise bestimmt. Die Resultate sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle der Löslichkeit des Theobromins in den verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Rückstand der 10 ccm Lösungsmittel bei 15° C.	also Rückstand, berechnet auf 1000 Th.	1 Th. Theobromin löslich in Th. Lösungsmittel	Mittelwerth
1. Chloroform	0,0027 g	2	1 : 3333 Thl.	1 : 3333 Theile
	0,0028 g	2	1 : 3333 =	
2. Paraldehyd	0,0035 g	3	1 : 3333 =	1 : 2665 =
	0,0054 g	5	1 : 2000 =	
3. Amylalkohol . . .	0,0032 g	3	1 : 3333 =	1 : 2860 =
	0,0038 g	3	1 : 2500 =	
4. Alcohol absol. . .	0,0012 g	1	—	1 : 10000 =
	0,0014 g	1	—	
5. Aether petrolei . .	Bei vier Proben ist das Schälchen leer.			
6. Aether sulfur. . .	0,0002 g	—	—	
	0,0003 g	—	—	

1) Ueber die therapeutische Anwendung des Diuretin. Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXVIII. (1890.)

Lösungsmittel	Rückstand der 10 ccm Lösungsmittel bei 15° C.	also Rückstand, berechnet auf 1000 Th.	1 Th. Theobromin löslich in Th. Lösungsmittel	Mittelwerth
7. Aether aceticus .	0,0008 g 0,0009 g	so gut wie unlöslich.		
8. Benzin	—	so gut wie unlöslich.		
9. Benzol	0,0007 g 0,0009 g	so gut wie unlöslich.		
10. Toluol	Spur von Rückstand.			
11. Xylol				
12. Aqua destill. . .	0,0038 g 0,0041 g	3 4	— —	1 : 2500 Theile

Theobromin ist also ganz im Gegensatz zum Coffeïn in den gewöhnlichen Lösungsmitteln nur in geringem Maasse löslich. Dagegen ist es durch Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure und durch Silberlösung quantitativ fällbar.

So kam ich auf die schon von Mitscherlich angewandte Methode, die sich bei der Gewinnung des Theobromin aus Cacaobohnen bewährt hat, zurück das Theobromin durch Phosphorwolframsäure aus dem Harn auszufällen [1]) und aus dem zerlegten Niederschlag zu isoliren. Für diese Isolirung schien mir die Löslichkeit des Theobromin in kochendem Chloroform am besten verwerthbar zu sein. Der Rückstand des zerlegten Phosphorwolframsäureniederschlages wurde also auf Gyps eingedampft und im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Chloroform extrahirt.

Der Flüssigkeit wurde stets 0,1 Theobromin, in Natronlauge gelöst, zugesetzt:

	in ccm	Gefunden Theobromin		in ccm	Gefunden Theobromin
1. Wasser	100	98,3 Theile	6. Wasser	1000	100,2 Theile
2. Wasser	100	98,4 =	7. Menschenharn.	1000	144,4 =
3. Menschenharn	100	107,9 =	8. Menschenharn.	1000	117,3 =
4. Menschenharn	100	108,3 =	9. Kaninchenharn	500	108,4 =
5. Menschenharn	250	124,4 =			

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass bei den methodischen Vorversuchen mit Harn neben dem Theobromin noch andere Körper aus dem Chloroformrückstand übergehen. Zur Trennung des Theobromin von denselben wurde die Silberfällung angewandt. Aehnlich wie E. W. Kunze [2]) bei der Darstellung des Theobromin aus Cacaobohnen

1) Hofmeister, Ueber die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. V. — Thudichum, Sur les alcaloides, principes immédiats de l'urine humaine (Comptes rendues 1888).

2) Ueber die quantitative Bestimmung und Trennung der Cacaoalkaloide. Zeitschrift f. analyt. Chemie. Bd. XXXIII. (1894.)

die Löslichkeitsunterschiede des Coffeïn und Theobromin in einem Ueberschuss von ammoniakalischer Silberlösung zur Trennung der beiden Basen von einander verwandte, suchte auch ich durch eine vorherige Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung die dem Theobromin fremden Substanzen wegzuschaffen. Das Theobrominsilber blieb in Lösung und wurde erst nach Verjagen des Ammoniak krystallinisch erhalten. Zur Zerlegung des ausgeschiedenen Theobrominsilbers benutzte ich nicht das Einleiten von Schwefelwasserstoff, sondern die bequemere Zerlegung mit Salzsäure in der Hitze. Zwar entsteht durch die Behandlung salzsaures Theobromin, beim Trocknen bei 110° C. aber wird die Salzsäure aus der Verbindung getrieben.

Die Methode gestaltete sich demnach folgendermaassen: Der Harn wird mit wenig Schwefelsäure und mit Phosphorwolframsäure im Ueberschuss versetzt, der Phosphorwolframsäureniederschlag decantirt und abfiltrirt, gut ausgewaschen und nebst dem Filter mit Barytwasser im Ueberschuss versetzt und der überschüssige Baryt durch Einleiten von Kohlensäure ausgefällt. Dies Filtrat wird auf Gyps eingedampft und im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Chloroform 12 Stunden lang extrahirt, der Rückstand des Chloroformextractes mit natronlaugehaltigem Wasser aufgenommen und heiss filtrirt. Beim Zusatz eines grösseren Ammoniaküberschusses wird durch ammoniakalische Silberlösung in manchen Fällen ein Niederschlag ausgefällt. Derselbe ist flockig und fällt sehr langsam (manchmal erst nach mehreren Stunden) aus, er wird abfiltrirt, das Ammoniak vertrieben, worauf sich das Theobrominsilber als krystallinischer Rückstand in Schollen, Plättchen und Platten ausscheidet. Das so gewonnene Theobrominsilber wird abfiltrirt, sammt dem Filter mit Wasser übergossen und in der Hitze mit Salzsäure bis zur starksauren Reaction versetzt. Nach der Zersetzung wird von dem Chlorsilber abfiltrirt, das Filtrat eingedunstet, getrocknet und gewogen.

In Vorversuchen überzeugte ich mich, dass die Methode auf theobrominfreien Menschenharn (circa 1000 ccm) angewandt unwägbare Rückstände, bei Hunde- und Kaninchenharn (circa 500 ccm) nur wenig Rückstand (bis 0,004 und 0,006 g) giebt. Bei den nicht unbeträchtlichen Theobrominmengen, die man aus dem Harn wieder erhält, glaubte ich, diese geringen Rückstände im Harn nicht berücksichtigen zu müssen.

Dass man ferner bei Anwendung der beschriebenen Methode dem Harn zugesetztes Theobromin quantitativ wiederfindet, geht aus nachstehenden Versuchen hervor:

Menge des Harns	Menge des dem Harn zugesetzten Theobromin	Extractionsdauer	Extractionsrückstand	Mit ammoniakal. Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
500 ccm Menschenharn	**0,1** g	12 Std.	0,2292 g	0,0291 g	**0,1073** g
1000 ccm Menschenharn	**0,1** g	12 Std.	0,1910 g	0,0132 g	**0,0992** g

In weiteren Vorversuchen konnte ich entscheiden, dass nach 6stündiger Extractionsdauer im Soxhlet'schen Extractionsapparat wohl aus wässriger Lösung, aus Harn dagegen erst nach circa 10stündiger Extraction alles Theobromin übergegangen ist. Ich extrahirte deshalb in meinen Versuchen stets 12 Stunden lang.

Thierexperimente.

Das Theobromin wurde in diesen Versuchen stets per os, entweder in heissem Wasser und Natronlauge gelöst oder als Diuretin (Knoll) gegeben. In den folgenden Tabellen ist stets das Gewicht des gesammten Chloroformextractionsrückstandes angeführt. Einiger erklärender Worte bedürfen noch die in der Colonne: „Mit ammoniakalischer Silberlösung fällbare Substanzen" angeführten Werthe. Ich beobachtete nämlich, dass nach Einnahme von Theobromin fast stets im Extractionsrückstand des Harns durch stark ammoniakalische Silberlösung ein flockiger Niederschlag entstand. Diese bei Gegenwart von viel Ammoniak durch Silberlösung ausfällbaren Substanzen fanden sich beim normalen Harn in nur geringen Mengen. Da die Reactionen dieser beigemengten Substanzen sehr inconstant ausgefallen sind, hat man es vielleicht nicht mit einem einheitlichen Körper, sondern mit einem Gemenge von Zersetzungsproducten des Theobromin zu thun, deren nähere Natur durch weitere Untersuchungen festgestellt werden muss.

Diuretin-Versuche am Kaninchen.

Versuchsthier, Gewicht	Menge des einverleibten Diuretin	Versuchsdauer	Fütterung	Harn: Menge, Reaction, Spec. Gew.	Extractrückstand	Mit ammoniakal. Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
I. 1500 g	**1,0** g = 0,48 g Theobromin	24 Std.	Hungerzustand	125 ccm alk. 1048 Spec. Gew.	0,0708		0,0192 g = 4 %
II. 2500 g	**1,0** g	24 Std.	Hungerzustand	185 ccm alk. 1033 Spec. Gew.	0,1039	0,0021 g	0,0362 g = **7,8** %

Versuchsthier, Gewicht	Menge des einverleibten Diuretin	Versuchsdauer	Fütterung	Harn: Menge, Reaction, Spec. Gew.	Extractrückstand	Mit ammoniakal. Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
III. 1400 g	**2,0** g = 0,96 g Theobromin	3 Tage	Fütterung	250 ccm alk. 1017 Spec. Gew.	0,3664	0,1030	0,1196 g = **12,5** %
IV. 1550 g	**2,0** g in Zeitraum von 2 Std.	26 Std.	Fütterung	340 ccm alk. 1013 Spec. Gew.	0,2656	0,0510	0,1708 g = **17,7** %

Theobromin-Versuche am Kaninchen.

Versuchsthier, Gewicht	Menge des einverleibten Theobromin	Versuchsdauer	Fütterung	Harn: Menge, Reaction, Spec. Gew.	Extractrückstand	Mit ammoniakal. Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
V. 1300 g	**0,5** g	2 Tage	Hungerzustand	240 ccm alk. 1018	0,2094	0,0304	0,1396 g = **28** %
VI. 1400 g	**0,5** g	2 Tage	Hungerzustand	150 ccm neutral 1022	0,3730	0,1118	0,1147 g = **23** %

Zusammenfassung: Bei Eingabe von 0,5 g Theobromin erhielt ich nach 2 mal 24 Stunden **23** und **28 Proc.** nach Eingabe von 1,0 g Diuretin nach 1 mal 24 Stunden **7,8 Proc.**, nach Gaben von 2,0 g Diuretin bei 36stündiger Versuchsdauer **12,5 Proc.** und bei 26stündiger Versuchsdauer **17,7 Proc.** der einverleibten Substanz im Harn wieder.

Diuretin-Versuche am Hund.

Versuchsthier, Gewicht	Menge des einverleibten Diuretin	Versuchsdauer	Harn			Extractrückstand	Mit ammoniakal Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
			Menge	Spec. Gew.	React.			
VII. 8500 g	**2,0** g	43 Std.	500 ccm	1050	neutral	0,4152	0,0972	0,2422 g = **25** %
VIII. 740 g	**2,0** g	50 Std.	330 ccm	1033	alkal.	0,2102	0,0530	0,1004 g = **10,5** %

Theobromin-Versuche am Hund.

IX. 7000 g	**1,0** g	48 Std.	280 ccm	1032	alkal.	0,4610	0,1666	0,2300 g = **23** %
X. 7000 g	0,5 + 0,5 = **1,0** g	60 Std.	380 ccm	1038	neutral	0,4530	0,0036	0,3184 g = **31,8** %

Zusammenfassung: Nach Dosen von 2,0 g Diuretin fanden sich **10,5** und **25 Proc.**, nach Dosen von 1,0 g Theobromin **23** und **31,8 Proc.** im Harn der Hunde wieder.

Diuretin-Versuche am Menschen.

	Menge des einverleibten Präparats	Harnmenge	Extractrückstand	Mit ammoniakal. Silberlösung fällbare Substanzen	Gefunden Theobromin
XI. Selbstversuch	**3,0** g Diuretin in aqua	4130 ccm in 24 Std. (Diurese)	0,6650	0,2620 g	0,2901 g = **20** %
XII. O. C.	**3,0** g in Oblaten plus viel Wasser	2650 ccm in 24 Std.	0,7550	0,1256 g	0,2596 g = **18** %

Theobromin-Versuch am Menschen.

XIII. Selbstversuch	Maximal-Einzeldosis, **1,5** g Theobromin in Oblaten	2660 ccm in 24 Std.	0,6420	0,1144	0,3110 g = **20,7** %

Zusammenfassung: Nach Eingabe von 1,5 g Theobromin erhielt ich im Harn des Menschen **20,7 Proc.**, nach Eingabe von 3,0 g Diuretin **18** und **20 Proc.** wieder.

Wie das Coffeïn, so scheint auch das Theobromin nicht mit dem Kothe der Versuchsthiere ausgeschieden zu werden. So konnte Schneider im Kothe von Katzen nach Theobromineingabe niemals eine qualitative Bestimmung mit Erfolg ausführen, Hoffmann fand Theobromin nie in den Fäces seiner mit Diuretin behandelten Patienten. Auch ich habe im Kothe eines Kaninchens und eines Hundes nach Theobromineingabe Theobromin nicht nachweisen können.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, dass das Theobromin bis zu **31,8 Proc.** in den Harn der Versuchsthiere übergeht. Wie bei Coffeïn, so fällt auch wieder beim Theobromin auf, dass die Ausscheidungsgrösse des Theobromin parallel zu gehen scheint mit dem Eintritt der Diurese und der Stärke derselben. So fanden sich beim Hund 31,8 Proc. und beim Kaninchen 28 Proc. Theobromin im Harn wieder; bei beiden Thiergattungen tritt die Diurese sicher ein. Auch beim Menschen lässt sich bis 20 Proc. vom einverleibten Theobromin im Harn wiederfinden.

Besonders auffällig ist der Unterschied in der Ausscheidung des Coffeïn und Theobromin beim Hund. Während sich beim Hund, der sich der Coffeïndiurese gegenüber refractär verhält, nur bis 8 Proc. Coffeïn im Harn nachweisen liess, scheidet er nach Theobromin, welches auch beim Hund diuretisch wirkt [1]), bis 31,8 Proc. im Harn aus. So könnte

1) Nach noch unveröffentlichten Versuchen von Herrn Prof. v. Schroeder.

man in der That die Ausscheidung dieser Xanthinkörper durch die Nierenepithelien in den Harn in eine causale Beziehung zum Eintritt der Diurese bringen, die ja nach v. Schroeder auf der Einwirkung dieser Substanzen auf die Nierenepithelien beruht.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchungen lassen sich dahin zusammenfassen:

1. Nach Eingabe von Coffeïn erscheint bis zu einem Viertel, nach Eingabe von Theobromin bis zu einem Drittel der aufgenommenen Menge im Harn wieder.

2. Der Parallelismus zwischen der Ausscheidungsgrösse bei den verschiedenen Thiergattungen einerseits und dem Eintritt der Diurese andererseits legt den Gedanken an eine Beziehung zwischen der Ausscheidung der Substanz im Harn und der diuretischen Wirkung nahe.